

张艳俊, 张家瑞, 栗小英, 等. TcLr35 小麦中抗病相关基因 S2A2 的抗叶锈性分析[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(1): 148–151.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.01.041

# TcLr35 小麦中抗病相关基因 S2A2 的抗叶锈性分析

张艳俊, 张家瑞, 栗小英, 王海燕, 刘大群

(河北农业大学植物保护学院/河北省农作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 河北保定 071001)

**摘要:** NBS-LRR 是已克隆植物抗病基因的高度保守氨基酸区域。前期工作中, 笔者成功克隆获得了 1 个通读的 NBS 类抗病同源基因 S2A2 的 cDNA 序列, 该序列含有 NB-ARC 保守结构域和多个 LRR 结构域, 且在小麦叶片中为低丰度组成型表达。进一步根据 S2A2 基因在 TcLr35 与 Thatcher 中扩增获得的基因序列差异位点设计特异性引物, 分别以 TcLr35、Thatcher 为模板进行扩增, 筛选出了具有较高稳定性和可重复性的 3 对引物。利用 3 个多态性引物对 TcLr35、Thatcher 及其 F<sub>2</sub> 代群体进行扩增和遗传性分析, 并用 Mapmanager 软件计算分子标记与抗叶锈病基因之间的遗传距离, 结果发现这 3 对引物获得的标记与 Lr35 基因遗传距离较远。利用这 3 个多态性引物扩增 33 个不同小麦抗叶锈病近等基因系材料, 并回收测序, 结果表明该基因序列在不同近等基因系材料中广泛存在。

**关键词:** NBS-LRR; 抗病基因; 小麦叶锈病; 分子标记

**中图分类号:** S435.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)01-0148-04

小麦是世界上分布范围最广, 栽培面积最大, 总产量最高的粮食作物。病害是威胁小麦稳产高产的主要因素之一。由专性寄生真菌——小麦叶锈菌(*Puccinia triticina*)引起的小麦叶锈病是最严重的小麦叶部病害之一, 在世界各产麦区均有

发生<sup>[1-2]</sup>。在北非、东南亚、中亚、东欧和南北美洲等广大地区较为严重。该病也是威胁我国小麦生产的一种常发病害, 20 世纪 70 年代, 北方麦区曾发生 3 次中度以上流行(1973 年、1975 年和 1979 年), 给我国小麦生产造成严重的损失<sup>[3]</sup>。过去几年中我国虽然没有叶锈病大规模暴发的相关报道, 但在华北及黄淮海区, 叶锈病经常对小麦生产造成危害, 近年来该病害呈上升趋势。开发利用寄主本身的抗病性是解决病害问题的根本途径, 但由于叶锈菌毒性基因的高度变异性<sup>[4-5]</sup>和抗锈品种的不合理使用, 导致传统抗病品种的抗性丧失。因此, 利用包括 DNA 分子标记技术在内的多种手段提高抗病基因和抗病类型的丰富度、保持品种抗锈性的持久有效, 是一项十分紧迫的任务。

成株抗叶锈病基因 Lr35 最初来源于拟斯卑尔脱山羊草

收稿日期: 2015-01-09

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31501623); 河北省高等学校科学技术研究项目(编号: QN12015171)。

作者简介: 张艳俊(1986—), 女, 河北邢台人, 硕士研究生, 主要从事分子植物病理学研究。E-mail: zyj18730222136@163.com。

通信作者: 王海燕, 博士, 副教授, 主要从事分子植物病理学研究。E-mail: ndwanghaiyan@163.com; 刘大群, 男, 博士, 教授, 主要从事植物病害生物防治和分子植物病理学研究。E-mail: ldq@mail.hebau.edu.cn。

70%, 药效均超过 40%、80%, 说明药剂对侵染性线虫有直接的致死作用, 同时影响线虫卵、卵囊的发育与孵化, 直接干扰线虫的有效侵染。本研究中, 有机肥的施用不仅起到增产作用, 而且对植物寄生线虫种群数量表现出一定的抑制作用, 说明有机肥能有效调控土壤环境、抑制侵染性线虫的种群数量<sup>[10]</sup>, 但其在土壤中施用对线虫病害的防控机制仍需进一步研究。

综合以上试验结果, 生产中建议药剂与有机肥配施, 以提高土壤肥力、增强植株的抗病虫能力, 并注意药剂轮换使用, 防止病原线虫产生抗性。对于叶菜类作物生长周期比较短的蔬菜可在播种或定植前施用 1 次药剂即可; 生长周期较长的茄科、豆科植物建议在药后 35 d 以后, 根据作物生理特点追施 1~2 次药剂。

## 参考文献:

- [1] 张真和, 肖日新, 赵建阳, 等. 海南和广西秋冬季蔬菜生产现状及发展建议[J]. 中国蔬菜, 2012(3): 1-4.
- [2] 黄伟明, 陈绵才, 肖彤斌, 等. 海南岛葫芦科蔬菜根结线虫危害性

- 调查与种类鉴定初报[J]. 植物保护, 2010, 36(4): 134-137.
- [3] 刘刚, 崔洪香, 王祥峰, 等. 关于蔬菜线虫病防治药剂使用的几个问题[J]. 中国植保导刊, 2006, 26(3): 34, 28.
- [4] Giannakou I O, Karpouzias D G, Anastasiades I, et al. Factors affecting the efficacy of non-fumigant nematicides for controlling root-knot nematodes[J]. Pest Management Science, 2005, 61(10): 961-972.
- [5] 陆秀红, 刘志明, 黄金玲, 等. 白花曼陀罗叶提取物对南方根结线虫生长发育的影响[J]. 广西农业生物科学, 2006, 25(2): 136-139.
- [6] 盖钧镒. 试验统计方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 99-125.
- [7] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [8] 邹维新. 不同杀线剂对南方根结线虫的作用方式与田间防效[D]. 保定: 河北农业大学, 2009: 29.
- [9] 漆永红, 曹素芳, 吕和平, 等. 不同药剂对南方根结线虫卵孵化及 2 龄幼虫活性的影响[J]. 西北农业学报, 2011, 20(9): 184-189.
- [10] 文廷刚, 杜小凤, 王伟中, 等. 几种复配药剂对黄瓜根结线虫的防治试验[J]. 江苏农业科学, 2009(5): 143-144.

(*Aegilops speltoides*)<sup>[6]</sup>, 通过与二倍体的 *Triticum monococcum* 回交转到小麦中, 定位在 2B 染色体上, 与 *Sr39* 紧密连锁。国内外至今尚未发现对它表现毒性的菌株存在, 是一个应用潜力很大的由主效基因控制的抗病基因。目前人们已经找到了与 *Lr35* 紧密连锁的 BCD260 和 UBC836 这 2 个分子标记, 并分别转化为更为稳定的 STS<sup>[7]</sup> 和 SCAR<sup>[8]</sup> 特异性标记。笔者所在实验室王海燕等在 TcLr35 小麦中获得 S2A2 基因全长<sup>[9]</sup>, 序列比较结果表明, 与 Thatcher 中获得的该基因序列差异明显, 含有多个插入/缺失或者 SNP 位点, 为了能快速且恰当的评价该基因的功能及其与小麦叶锈病的抗病相关性, 本研究利用特异性引物筛选抗感材料 and 不同近等基因系材料差异, 以期明确 S2A2 基因抗叶锈性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试小麦叶锈菌致病菌株 99-8-11-5-3 由河北农业大学小麦叶锈病研究中心提供。小麦抗叶锈病近等基因系材料 TcLr35、感病亲本 Thatcher 和郑州 5389 及其他抗叶锈病近等基因系均来自河北农业大学小麦叶锈病研究室。

### 1.2 特异性引物的筛选

围绕 Thatcher 和 TcLr35 中获得的序列差异位点设计特异性引物(表 1), 将其自由组合成不同引物组合, 并以 TcLr35 和 Thatcher 为模板进行筛选。引物筛选的 24  $\mu$ L 反应体系为: 1.0  $\mu$ L 模板, 18.7  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O, 2.5  $\mu$ L 10  $\times$  buffer, 0.5  $\mu$ L dNTP, 正反向引物各 0.5  $\mu$ L, 0.3  $\mu$ L *Taq* 酶。反应程序为 94  $^{\circ}$ C 预变性 1 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 58  $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72  $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 30 个循环; 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测, 用凝胶成像分析系统进行拍照及分析。

表 1 试验用引物

引物名称	引物序列 (5'→3')	引物位置 (bp)
SSA2	GAAGATGTGGGCGTATGACGCTC	1 727 ~ 1 749
SSA7	TGTACTTATATGTGGCTAGCTTC	1 425 ~ 1 447
SSA8	GTCCACCTATTTTCCACCTAC	2 626 ~ 2 605
SSA12	GGAGGAGCGAGGGGACAT	2 663 ~ 2 680

注: 引物位置指引物在 S2A2 基因基因组全长中的位点。

### 1.3 抗叶锈病分析

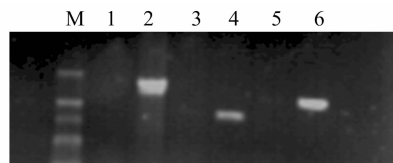
*Lr35* 基因为成株抗叶锈病基因, 待供试小麦生长至 4 叶期, 采用撒粉法接种新鲜小麦叶锈菌种。接种后 15 d 左右, 待发病充分时进行抗感鉴定<sup>[15]</sup>, 按 0、1、2、3、4 等 6 级标准调查记载表现型, 0~2 级为抗病, 3~4 级为感病。同时利用 *Lr35* 的 SCAR 引物进行抗病性鉴定<sup>[8]</sup>。24  $\mu$ L 反应体系为: 模板 1.0  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 18.7  $\mu$ L, 10  $\times$  buffer 2.5  $\mu$ L, dNTP 0.5  $\mu$ L, 正反向引物各 0.5  $\mu$ L, *Taq* 酶 0.3  $\mu$ L。反应程序为: 94  $^{\circ}$ C 预变性 1 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 64  $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72  $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 35 个循环; 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测, 用凝胶成像分析系统进行拍照及分析。

利用小麦近等基因系寻找 TcLr35 的多态条带, 再用 F<sub>2</sub> 分离后代单株, 验证该多态性条带与目标基因连锁程度。用 Mapmanager 软件对数据进行连锁分析, 计算遗传距离。

## 2 结果与分析

### 2.1 特异性引物的筛选

为了进一步明确该基因与 *Lr35* 的关系, 根据 S2A2 基因在 TcLr35 和 Thatcher 中序列的差异性位点设计引物组合进行筛选, 获得 3 条特异性条带, 即 3 对引物组合能扩增出小麦抗叶锈病近等基因系 TcLr35 特异性条带, 而在 Thatcher 中条带缺失, 这 3 对引物分别是 SSA7/SSA8、SSA2/SSA8、SSA7/SSA12。引物对 SSA7/SSA8 能在 TcLr35 中稳定扩增出 1 条大小为 1 200 bp 左右的条带; 引物对 SSA2/SSA8 能在 TcLr35 中稳定扩增出 1 条大小为 890 bp 左右的条带; 引物对 SSA7/SSA12 能在 TcLr35 中稳定扩增出 1 条大小为 1 300 bp 左右的条带(图 1)。经多次试验, 扩增结果具有很高的稳定性和可重复性。



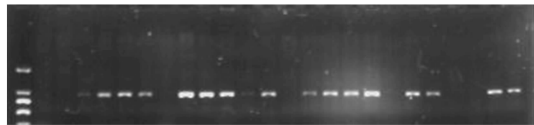
M—DL2000 marker; 1、3、5—Thatcher; 2、4、6—TcLr35;  
1、2—SSA7/SSA12; 3、4—SSA2/SSA8; 5、6—SSA7/SSA8  
图 1 特异性引物扩增结果

### 2.2 小麦叶锈病的鉴定及群体遗传分析

叶锈菌生理小种 99-8-11-5-3 接种 TcLr35、感病亲本 Thatcher 及杂交 F<sub>1</sub> 代 10 个单株。抗病鉴定结果表明, TcLr35 和 10 个杂交 F<sub>1</sub> 代单株对生理小种 99-8-11-5-3 表现为高抗(反应型为 0), 而 Thatcher 表现为高感(反应型为 4)。

成株期对 192 个 F<sub>2</sub> 代单株接种小麦叶锈菌生理小种 99-8-11-5-3 后, 抗病 146 株, 感病 46 株, 用卡方测验( $\chi^2$ -test)检验其适合度, 其卡方值是 0.11, 检验结果表明, 该基因符合 3:1 的遗传规律, 说明 F<sub>2</sub> 代中的 *Lr35* 基因以单显性基因方式存在。为保证鉴定结果的可靠性, 用 *Lr35* 的 SCAR 引物对 192 株 F<sub>2</sub> (TcLr35  $\times$  Thatcher) 代群体抗病性进行鉴定, 结果在抗病品种中扩出了 *Lr35* 基因的特异条带而在感病品种中没有(图 2), 结果与接菌鉴定一致。

M S S R R R R S R R R R R S R R R R S R R S S R 35



M—DL2000 marker; R—F<sub>2</sub>代抗病植株; S—F<sub>2</sub>代感病植株;  
35—TcLr35

图 2 SCAR 在 F<sub>2</sub> 代中的扩增部分结果

为检测目的基因位点与所获得标记位点的遗传连锁性, 利用 3 个多态性引物检测 F<sub>2</sub> 代群体单株, 其结果显示, 引物对 SSA7/SSA8 在 46 株感病中有 4 株扩出大小为 1 200 bp 的差异性条带, 而在 146 株抗病中有 4 株没有扩出差异性条带(图 3); 引物对 SSA7/SSA12 在 46 株感病中有 5 株扩出大小为 1 290 bp 的差异性条带, 而在 146 株抗病中有 3 株没有扩出差异性条带(图 4); 引物对 SSA2/SSA8 在 46 株感病中由 5

株扩出 890 bp 差异性条带,而在 146 株抗病中有 4 株没有扩出差异性条带(图 5),表明在后代群体中 3 个标记交换值均较高。用 Mapmanager 软件计算分子标记与抗叶锈病基因之间的遗传距离,结果发现这 3 对引物获得的标记与 *Lr35* 基因遗传距离较远。

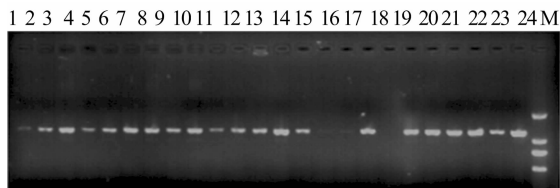


图3 引物组合SSA7/SSA8扩增  $F_2$ (TcLr35 × Thatcher) 代抗病株的扩增部分结果

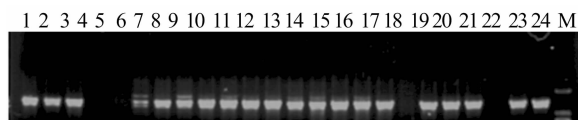
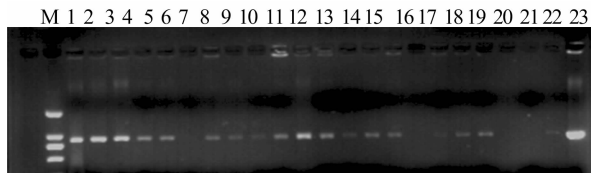


图4 引物组合SSA7/SSA12扩增  $F_2$ (TcLr35 × Thatcher) 代抗病株的扩增部分结果

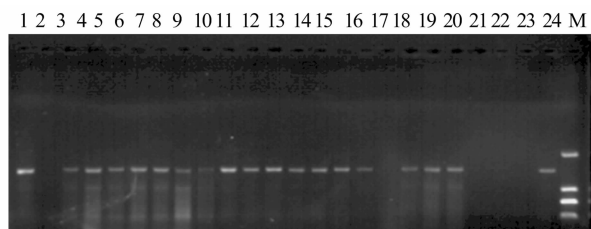


M—DL2000 marker

图5 引物组合 SSA2/SSA8 扩增  $F_2$ (TcLr35 × Thatcher) 代抗病株的扩增部分结果

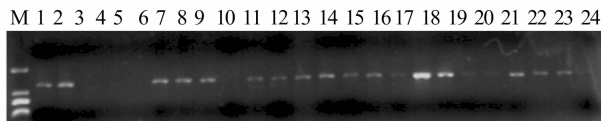
### 2.3 特异性引物扩增近等基因系

用 3 对特异性引物组合分别对 33 个小麦抗叶锈基因系材料进行 PCR 扩增(图 6、图 7、图 8),结果显示,引物组合 SSA7/SSA8、SSA7/SSA12 除在 TcLr14a、TcLr14b、TcLr14ab、TcLr41、TcLr42 和 TcLr18 中没有获得扩增条带外,其余 27 个近等基因系中均扩增出目的条带;引物组合 SSA2/SSA8 除在 TcLr14a、TcLr14b、TcLr14ab、TcLr41、TcLr42、TcLr11 和 TcLr18 中没有条带外,其余 26 个近等基因系中均扩增出目的条带,说明 3 个特异性条带在大多数近等基因系材料中存在,选取不同来源近等基因系材料中获得的差异性条带回收测序,所得序列与 TcLr35 的差异性条带序列差异不大,表明获得的序列在近等基因系材料中普遍存在。



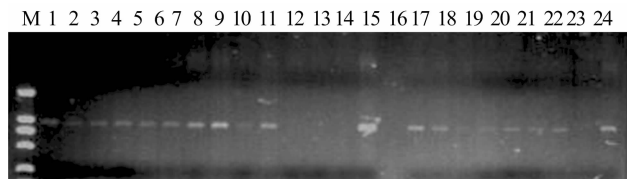
M—DL2000 marker; 1—TcLr1; 2—TcLr14a; 3—TcLr3; 4—TcLr9; 5—TcLr13; 6—TcLr15; 7—TcLr19; 8—TcLr21; 9—TcLr24; 10—TcLr28; 11—TcLr30; 12—TcLr32; 13—TcLr38; 14—TcLr44; 15—TcLr2b; 16—TcLr2a; 17—TcLr14b; 18—TcLr3ka; 19—TcLr3bg; 20—TcLrB; 21—TcLr14ab; 22—TcLr41; 23—TcLr42; 24—TcLr16

图6 引物组合 SSA7/SSA12 在不同近等基因系的扩增结果



M—DL2000 marker; 1—TcLr1; 2—TcLr3; 3—TcLr14a; 4—TcLr14b; 5—TcLr14ab; 6—TcLr9; 7—TcLr13; 8—TcLr15; 9—TcLr18; 10—TcLr28; 11—TcLr30; 12—TcLr32; 13—TcLr38; 14—TcLr44; 15—TcLr2b; 16—TcLr2a; 17—TcLr19; 18—TcLr21; 19—TcLr24; 20—TcLr3ka; 21—TcLr3bg; 22—TcLrB; 23—TcLr42; 24—Thatcher

图7 引物组合 SSA7/SSA8 在近等基因系的扩增结果



M—DL2000 marker; 1—TcLr16; 2—TcLr3; 3—TcLr9; 4—TcLr13; 5—TcLr15; 6—TcLr28; 7—TcLr30; 8—TcLr32; 9—TcLr38; 10—TcLr44; 11—TcLr14a; 12—TcLr14b; 13—TcLr11; 14—TcLr2a; 15—TcLr41; 16—TcLr2b; 17—TcLr19; 18—TcLr21; 19—TcLr24; 20—TcLr3ka; 21—TcLr3bg; 22—TcLrB; 23—TcLr42; 24—TcLr1

图8 引物组合 SSA2/SSA8 在近等基因系的扩增结果

### 3 讨论

抗叶锈病基因的利用,在小麦抗叶锈病育种中发挥了重要的作用。迄今为止,国际上已发现 100 余个小麦抗叶锈基因,正式命名编号至 *Lr72*<sup>[16]</sup>,其中大部分已分子作图并获得紧密连锁或共分离的分子标记(*Lr1*<sup>[17]</sup>、*Lr2c*<sup>[18]</sup>、*Lr12*<sup>[19]</sup>、*Lr25*<sup>[20]</sup>、*Lr32*<sup>[21]</sup>、*Lr37*<sup>[22]</sup>、*Lr38*<sup>[23]</sup>、*Lr41*<sup>[24]</sup>、*Lr42*<sup>[25]</sup>、*Lr48*<sup>[26]</sup>和 *LrZH84*<sup>[27-28]</sup>),但由于气候条件的变化、生产上的局限性及新的叶锈菌生理小种的形成,导致许多抗锈品种反应型由近免疫到了 1 或 2 型甚至 4 型。如 *Lr1* 基因对小麦大部分叶锈菌生理小种已表现感病,*Lr2c* 基因毒性频率也下降<sup>[29]</sup>等等。培育成株抗性品种将会成为控制小麦叶锈病经济与环保相结合的有效方法。小麦抗叶锈病基因 *Lr35* 是一个成株抗性基因,且尚未报道发现其毒性小种,是有效的成株抗性基因,吸引了大量的研究者。本实验室先后对其抗病机制<sup>[30,31]</sup>、分子标记<sup>[31]</sup>、辅助育种<sup>[32]</sup>等方面进行了研究,并取得了一定的进展。本研究旨在前期工作的基础上进一步明确 S2A2 基因与小麦抗叶锈性的关系。

研究发现试图应用特异性引物在抗感材料间发现带型上的差异不太可能。可能是单碱基的差异,而不是碱基数目的差异,这是不能用普通的电泳带型区分的,这与已克隆的小麦抗叶锈病基因 *Lr34* 特点类似<sup>[33]</sup>。本研究根据 S2A2 基因序列设计全长引物,在 Thatcher 和 TcLr35 基因组中分别获得该基因扩增条带,进行了全长测序,发现 S2A2 基因在抗感材料间序列差异明显,尤其 3'端差异显著,含有多个较长的插入、缺失序列,而大多数基因的功能主要决定于 3'端<sup>[34]</sup>。

为了揭示 S2A2 基因与 *Lr35* 相关性,根据抗感材料中序列差异明显区域,尤其围绕 2 个内元设计特异性引物,有 3 个引物能够揭示 TcLr35 和 Thatcher 抗感亲本间差异,而在  $F_2$  代验证中感病单株也出现了与抗病亲本相同的特异条带,郭

楠等<sup>[36]</sup>和闫红飞等<sup>[23]</sup>分别在获得 *Lr45*、*Lr38* 的分子标记时也具有该现象,可能是由单核苷酸位点突变引起的重组突变或染色体交叉导致的,但其交换值较高,这些标记与 *Lr35* 基因遗传距离较远。当然这些引物扩增的仅是 *S2A2* 基因全长中的一部分序列,可能为遗传背景中共同的遗传信息,由于小麦抗叶锈病基因来源比较复杂,如 *Lr19* 来源于长穗偃麦草 (*Thinopyrum elongatum*), *Lr35* 来源于拟斯比尔脱山羊草 (*Aegilops speltoides*), *Lr38* 来源于中间偃麦草 (*T. intermedium*), *Lr41* 和 *Lr42* 基因来源于粗山羊草 (*T. tauschii*) 等等,转入普通小麦后,经过 6 代回交,可能会产生一些共同的遗传物质,如果筛选更多的特异性引物,可能会获得与 *Lr35* 紧密连锁或共分离的分子标记。同时利用这些特异性引物在一部分小麦抗叶锈病近等基因系材料中可以获得相同的序列,在一部分小麦抗叶锈病近等基因系材料中不能获得有效扩增片段,说明这些序列在多数近等基因系基因组中广泛存在,而且这种差异能在抗感材料间表现。由于小麦基因组的复杂性,以及 *Lr35* 目的基因本身来源于外源导入片段,从以上的研究结果推测,*S2A2* 基因可能不是 *Lr35* 目的基因,但其中的一些序列在多数小麦抗叶锈病近等基因系材料中普遍存在,而且可能与小麦抗叶锈性相关,可能为多数小麦抗叶锈病反应中的调控基因,该结果尚待在稳定转化中进行进一步的功能验证。

#### 参考文献:

- [1] Kloppeers F J, Pretorius Z A. Effects of combinations amongst genes *Lr13*, *Lr34* and *Lr37* on components of resistance in wheat to leaf rust [J]. Plant Pathology, 1997, 46: 737 – 750.
- [2] Komer J A. Genetics of resistance to wheat leaf rust [J]. Annual Review Phytopathology, 1996, 34: 435 – 455.
- [3] 庄巧生, 杜振华. 小麦育种研究进展 (1991—1995) [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 234 – 240.
- [4] 陈万权. 1990—1993 年我国小麦叶锈菌生理小种及其致病性特点研究 [J]. 植物保护学报, 1994, 21 (4): 289 – 295.
- [5] 曹克强, 王焕如. 小麦品种慢叶锈性及其变异性和专化性研究 [J]. 植物病理学报, 1989, 19 (1): 54 – 55.
- [6] Kerber E R, Dyck P L. Transfer to hexaploid wheat of linked genes for adult plant leaf rust and seedling stem rust resistance from an amphiploid of *Aegilops speltoides* × *Triticum monococcum* [J]. Genome, 1990, 33: 530 – 537.
- [7] Seyfarth R, Feuillet C, Schachermayr G, et al. Development of a molecular marker for the adult plant leaf rust resistance gene *Lr35* in wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1999, 99: 554 – 560.
- [8] Julia G. Development of a molecular marker for rust resistance genes *Sr39* and *Lr35* in wheat breeding lines [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 1999, 2: 35 – 40.
- [9] 王海燕, 刘大群, 杨文香, 等. 一个小麦 NBS 类抗病基因同源 cDNA 序列的克隆与鉴定 [J]. 植物病理学报, 2009, 39 (5): 507 – 513.
- [10] Kolmer J A. Postulation of leaf rust resistance genes in selected soft red winter wheats [J]. Crop Science, 2003, 43: 1266 – 1274.
- [11] Herrera – Foessel S A, Huerta – Espino J, Calvo – Salazar V, et al. *Lr72* confers resistance to leaf rust in durum wheat cultivar Atil C2000 [J]. Plant Dis, 2014, 98 (5): 631 – 635.
- [12] Qiu J W, Schürch A C, Yahiaoui N, et al. Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene *Lr1* of wheat. [J]. Theor Appl Genet, 2007, 115: 159 – 168.
- [13] 张娜, 闫红飞, 张英春, 等. 小麦抗叶锈病基因 *Lr2c* 的 SSR 标记 [J]. 农业生物技术学报, 2009, 17 (1): 148 – 152.
- [14] Singh S, Bowden R L. Molecular mapping of adult – plant race – specific leaf rust resistance gene *Lr12* in bread wheat [J]. Mol Breeding, 2011, 28: 137 – 142.
- [15] Singh A, Pallavi J K, Gupta P, et al. Identification of microsatellite markers linked to leaf rust resistance gene *Lr25* in wheat [J]. J Appl Genet, 2012, 53: 19 – 25.
- [16] Thomas J, Nirmalgoda S, Hiebert C, et al. Genetic markers and leaf rust resistance of the wheat gene *Lr32* [J]. Crop Sci, 2010, 50: 2310 – 2317.
- [17] Helguera M, Khan I A, Kolmer J, et al. PCR assays for the *Lr37 – Yr17 – Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines [J]. Crop Sci, 2003, 43: 1839 – 1847.
- [18] 闫红飞, 杨文香, 褚栋等. 小麦抗叶锈基因 *Lr38* 的一个新标记 [J]. 中国农业科学, 2008, 41 (11): 3604 – 3609.
- [19] Sun X C, Bai G H, Carver B F. Molecular markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr41* [J]. Mol Breeding, 2009, 23: 311 – 321.
- [20] Sun X C, Bai G H, Carver B F, et al. Molecular mapping of wheat leaf rust resistance gene *Lr42* [J]. Crop Sci, 2010, 50: 59 – 66.
- [21] Samsampour D, Zanjani B M, Pallavi J K, et al. Identification of molecular markers linked to adult plant leaf rust resistance gene *Lr48* in wheat and detection of *Lr48* in the Thatcher near – isogenic line with gene *Lr25* [J]. Euphytica, 2010, 174: 337 – 342.
- [22] Zhao X L, Zheng T C, Xia X C, et al. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrZH84* in Chinese wheat line Zhou 8425B [J]. Theor Appl Genet, 2008, 117: 1069 – 1075.
- [23] Zhou Y, Xia X C, He Z H, et al. Fine mapping of leaf rust resistance gene *LrZH84* using expressed sequence tag and sequencetagged site markers, and allelism with other genes on wheat chromosome 1B [J]. Phytopathology, 2013, 103: 169 – 174.
- [24] 胡亚亚, 孙一, 张河山, 等. 8 个小麦育种亲本抗叶锈基因分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15 (4): 802 – 809.
- [25] 陈云芳, 杨文香, 闫红飞, 等. 小麦抗叶锈病基因近等基因系 *TcLr35* 基因表达差异研究 [J]. 植物病理学报, 2007 (1): 111 – 114.
- [26] 高倩, 王海燕, 刘大群, 等. 小麦抗叶锈病基因 *Lr35* 的 RGA 分析 [J]. 华北农学报, 2008, 23 (6): 50 – 53.
- [27] 魏新燕, 杨文香, 刘大群, 等. 150 个小麦品种 (系) 抗叶锈基因 *Lr35* 分子检测 [J]. 中国农业科学, 2004, 37 (12): 1951 – 1954.
- [28] Dakouri A, McCallum B D, Cloutier S. Haplotype diversity and evolutionary history of the *Lr34* locus of wheat [J]. Mol Breeding, 2014, 33: 639 – 655.
- [29] Huang L, Steven A B, Li W L, et al. Map – based cloning of leaf rust resistance gene *Lr21* from the large and polyploid genome of bread wheat [J]. Genetics, 2003, 164: 655 – 664.
- [30] 郭楠, 刘春燕, 赵盼盼, 等. 小麦抗叶锈病基因 *Lr45* 的表达序列标签 – 酶切扩增多态 (EST – CAPS) 分析 [J]. 农业生物技术学报, 2013, 21 (6): 668 – 676.